

ELAINE LOPES PEREIRA NUNES

**ONTOGÊNESE DA ANTERA EM *Potamogeton polygonus* CHAM. ET SCHLTDL.
(POTAMOGETONACEAE).**

Monografia apresentada à disciplina
Estágio em Botânica, como parte dos
requisitos necessários para obtenção do
título de Bacharel em Ciências Biológicas,
Setor de Ciências Biológicas, Universidade
Federal do Paraná.

Orientadora: Prof. ^a Maria Cecília de Chiara
Moço.

**Curitiba
2006**

Àqueles que tornaram o caminho árduo um pouco mais suave e divertido.

AGRADECIMENTOS

A

Minha família, pelo apoio incondicional oferecido nesses quatro anos, em especial minha mãe e minha avó Joana.

Gustavo, meu amado noivo, pelo apoio, amor, e paciência, além do auxílio em tantos trabalhos acadêmicos e com a formatação dessa monografia.

Jenifer, Jocieli e Makeli, minhas grandes amigas e companheiras de graduação, que dividiram comigo tantos momentos – felizes, tristes, sérios, divertidos, engraçados – e agüentaram pacientemente os meus “chiliques” .

Maria Cecília, minha orientadora, por despertar em mim o amor pelas plantas e pela Ciência.

Nilson, o querido técnico do Laboratório de Botânica Estrutural, por sua paciência, ajuda e agradável companhia.

Todos os amigos, pela persistência, apesar de minhas ausências em função das atividades do curso de Ciências Biológicas.

Todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, e conseqüente conclusão do curso.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	V
RESUMO	VI
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	7
3 MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1 COLETAS E FIXAÇÃO	8
3.2 MICROSCOPIA ÓPTICA	9
3.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	10
3.4 MANUTENÇÃO DE EXEMPLARES EM AQUÁRIO	10
4 RESULTADOS	11
4.1 DESENVOLVIMENTO FLORAL.....	11
4.2 ONTOGÊNESE DOS ESTRATOS PARIETAIS.....	15
4.3 ANDROSPOROGÊNESE.....	19
4.4 ANDROGAMETOGÊNESE	21
5 DISCUSSÃO.....	24
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
GLOSSÁRIO	30
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – MORFOLOGIA GERAL DE <i>Potamogeton polygonus</i>	3
FIGURA 2 – <i>Potamogeton polygonus</i>	8
FIGURA 3 – LOCAIS DE COLETA	8
FIGURA 4 – DESENVOLVIMENTO FLORAL EM MEV	13
FIGURA 5 – DESENVOLVIMENTO FLORAL EM MEV	14
FIGURA 6 – DIAGRAMA EXPLICATIVO DA FORMAÇÃO DOS ESTRATOS PARIETAIS	16
FIGURA 7 – ONTOGÊNESE DA ANTERA EM MO	17
FIGURA 8 – ONTOGÊNESE DOS ESTRATOS PARIETAIS E INÍCIO DA ANDROSPOROGENESE EM MO	18
FIGURA 9 – ANDROSPOROGENESE.	20
FIGURA 10 – ANDROGAMETOGÊNESE.....	22
FIGURA 11 – CARACTERÍSTICAS DO ANDRÓFITO	23
 TABELA 1 - TESTES HISTOQUÍMICOS.....	 21

RESUMO

A família Potamogetonaceae, assim como os gêneros nela inseridos, apresentam um posicionamento sistemático ainda controverso. A espécie *Potamogeton polygonus* Cham. et Schltdl. é aquática, endêmica da América do Sul, e foi muito pouco estudada, especialmente quanto à sua reprodução. Nesse trabalho, objetivou-se descrever a ontogênese da antera em microscopia óptica e eletrônica de varredura, detalhando a esporogênese e a gametogênese de *P. polygonus*. O material botânico utilizado nesse estudo foi coletado em rios e lagoas do Município de General Carneiro, Paraná. Para as análises em MO, realizadas no Laboratório de Botânica Estrutural da UFPR, as inflorescências, em vários estádios de desenvolvimento, foram fixadas em 1% glutaraldeído e 4% formaldeído em tampão fosfato 1.0 M, pH 7.2, desidratadas em série etanólica ascendente, incluídas em hidroxetilmetacrilato, e os blocos foram seccionados em cortes de espessura de 5 µm em navalha de aço perfil C e 1,5 µm em navalha de vidro. Para as análises em MEV, o material foi fixado em FAA 70, desidratado em série ascendente de propanona e, então, seco em ponto crítico e observado no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR. A antera é séssil, biteca e tetraesporangiada desenvolvendo quatro camadas parietais: endotécio, duas camadas médias e tapete. Na antera madura, permanecem a epiderme e o endotécio com paredes espessadas. O tapete é do tipo plasmodial, cujas células se desprendem da parede da antera durante a meiose e migram para o interior do lóculo onde degeneram. A citocinese meiótica das células-mãe de andrósporos é sucessiva e as tétrades resultantes são decussadas, tetragonais ou irregulares. O grão de pólen maduro apresenta esporoderme delgada, pouco ornamentada, sendo liberado da antera no estágio tricelular com reserva de amido. Este estudo registra novos caracteres embriológicos para a família e trazem novas perspectivas para os trabalhos futuros com esse grupo.

Palavras-chave: Potamogetonaceae; Ontogênese; Antera;

1 INTRODUÇÃO

As macrófitas aquáticas das regiões tropicais são ainda pouco conhecidas (THOMAZ & BINI, 2003). O Brasil é um país com grande número de ambientes aquáticos (THOMAZ & BINI, 2003) e com o maior número de espécies aquáticas (HOEHNE, 1955). Dessa forma, a escassez de trabalhos sobre biologia e ecologia de macrófitas é incoerente com a diversidade existente no país (BOVE *et al.*, 2003; POMPÊO & MOSCHINI-CARLOS, 2003, THOMAZ & BINI, 2003). THOMAZ & BINI (2003) demonstraram que o Estado do Paraná é o terceiro estado brasileiro que menos publica nessa área. Em 1983, foi publicado um catálogo preliminar da flora hidrófila paranaense, com 22 famílias de fanerógamas aquáticas (CERVI *et al.*, 1983). A partir daí nada mais foi publicado, mostrando que a flora aquática do Estado do Paraná ainda é pouco conhecida. Estes fatos incentivaram a elaboração e execução do projeto “Plantas aquáticas do Paraná I - levantamento e caracterização morfológica das macrófitas e perifíton associado do Município de General Carneiro”, Banpesq 2005016309, coordenado pela Profa. Dra. Cleusa Bona, e do projeto integrado “Plantas Aquáticas do Paraná. 1- Levantamento e caracterização taxonômica e morfo-anatômica das macrófitas do Município de General Carneiro”, coordenado pelo Prof. Dr. Armando Carlos Cervi, financiado pelo CNPq (Edital Universal CNPq nº019/2004, protocolo nº7269263276070485, processo nº4752482004-0). A professora orientadora e a aluna executora deste trabalho estão inseridas no Grupo de Pesquisa “Botânica Estrutural” do CNPq, liderado pela Profa. Dra. Cleusa Bona, na Linha de Pesquisa “Morfo-anatomia de órgãos reprodutivos e plântula”, dentro do sub- projeto “Caracterização reprodutiva das plantas aquáticas do Estado do Paraná” (Banpesq 2005016581). Estes projetos têm sido executados desde fevereiro de 2004 e os dados preliminares já foram apresentados em eventos científicos nacionais e internacionais (CERVI *et al.*, 2005; LUSA & BONA, 2005; BONA *et al.* 2006).

A família Potamogetonaceae é controversa em sua sistemática ao se observar às informações disponíveis na literatura. Para CRONQUIST (1981), a família está inserida na ordem Najadales, com outras nove famílias. JUDD e colaboradores (2000),

a agrupam a outras 13 famílias na ordem Alismatales, enquanto TAMURA e colaboradores (2004) incluem a família nessa mesma ordem, porém com uma configuração diferente, em conjunto com seis famílias. Quanto ao número de gêneros na família também há muitas controvérsias. Enquanto CRONQUIST (1981) inclui na família apenas o gênero *Potamogeton*, DAHLGREN e colaboradores (1985) adicionam os gêneros *Ruppia* e *Groenlandia*. JUDD e colaboradores (2000) consideram apenas os gêneros *Potamogeton* e *Coleogeton*. Baseados em APG II, SOUZA & LORENZI (2005), incluem ainda na família o gênero *Zannichellia*. Por outro lado, alguns gêneros tradicionalmente incluídos na família Araceae, também apresentam similaridades com Potamogetonaceae, como por exemplo, o gênero *Gymnostachys* (BUZGO, 2001). As duas famílias supracitadas apresentam semelhanças no padrão de desenvolvimento floral unidirecional, na posição das tépalas e quanto à presença ou não de uma bráctea oposta (BUZGO, 2001).

A espécie *Potamogeton polygonus* Cham. et Schltld. é encontrada somente na América do Sul, estando presente na Argentina, no Uruguai e no Brasil e neste, ocorrendo na Amazônia e nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, em águas doces lóticicas e lênticas (RODRIGUES & IRGANG, 2001). Tal espécie é caracterizada por um caule comprimido; pouco ou não ramificado no ápice, com entrenós curtos; folhas membranáceas, lineares, ápice acuminado a apiculado, base truncada, paralelinérveas. Quanto a sua morfologia reprodutiva sabe-se que as inflorescências são do tipo espiga, uniforme, cilíndrica, emersa ou, às vezes, submersa, com flores perfeitas, tetrâmeras, homoclamídeas, distribuídas de forma verticilada; seus frutos são pardos com sementes curvas (fig. 1). Floresce e frutifica de setembro a março. Cita-se seu papel fundamental no ambiente aquático por proporcionar abrigo, alimento e sítio de desova para peixes e invertebrados, além de constituir-se um recurso valioso na alimentação de algumas aves (RODRIGUES & IRGANG, 2001).

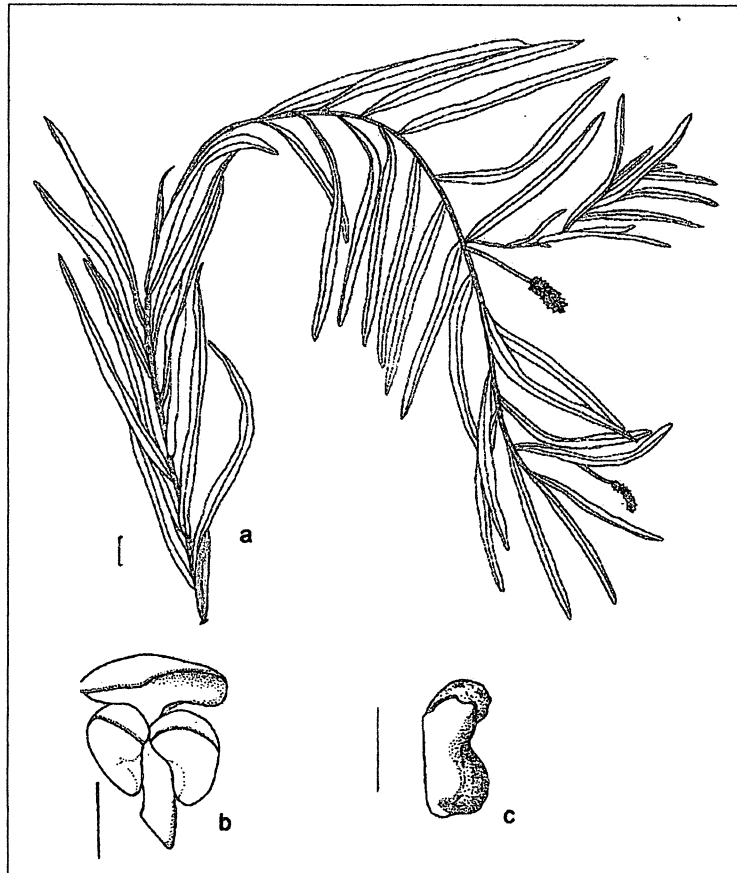


FIGURA 1 – MORFOLOGIA GERAL DE *Potamogeton polygonus*: a) ramo com folhas submersas; b) tépala com antera adnata; c) carpelo. Escalas= 1mm. (adaptado de Rodrigues e Irgang, 2001)

Há escassez de estudos quanto a aspectos ontogenéticos e anatômicos dos órgãos florais da família Potamogetonaceae. A descrição da embriologia da família feita por JOHRI e colaboradores (1992), se baseia, principalmente, em espécies que já foram excluídas desta família e, reposicionadas em sistemas de classificação atuais. Os mesmos autores já pontuavam que, na época, mais estudos seriam necessários, pois os caracteres embriológicos destes táxons eram muito diversos.

Uma série de estudos abordando o desenvolvimento floral confrontou caracteres ontogenéticos para esclarecer a interpretação da unidade reprodutiva em *Potamogeton* (POSLUSZNY, 1981; POSLUSZNY & CHARLTON, 1986,1991; POSLUSZNY & SATTLER, 1973,1974A E B; SATTLER, 1965; SINGH, 1965). Alguns autores consideram a “flor” como uma inflorescência composta por quatro flores estaminadas reduzidas circundando quatro flores pistiladas reduzidas (KUNTH, 1841; MIKI, 1937 e

UHL, 1947, *apud* SINGH, 1965; POSLUSZNY & SATTLER, 1973). A posição oposta das tépalas às anteras; a grande distância entre as tecas da antera; a origem da antera bi-primordial e as tépalas como apêndices do conectivo da antera foram consideradas evidências suportando essa hipótese (KUNTH, 1841; MIKI, 1937 E UHL, 1947, *apud* SINGH, 1965; POSLUSZNY & SATTLER, 1973). Por outro lado, alguns a interpretaram como uma flor simples (POSLUSZNY & CHARLTON, 1986; SINGH, 1965; SATTLER, 1965; POSLUSZNY & SATTLER, 1974b), devido ao surgimento do perianto ser anterior ao dos estames, ausência de mudanças na vascularização e origem uni-primordial dos estames na maioria dos casos.

Na androsporogênese das Angiospermas, são tradicionalmente caracterizados dois tipos de citocinese - sucessiva e simultânea. Nas monocotiledôneas a citocinese é do tipo sucessiva (FURNESS & RUDALL, 1999, 2001; RESSAYRE, 2001; FURNESS, RUDALL & SAMPSON, 2002; NADOT *et al.*, 2006; PENET *et al.*, 2005;) com a formação da parede interespórica através de placas celulares centrífugas (NADOT *et al.*, 2006; PENET *et al.*, 2005). Entretanto, variações nesses padrões pré-estabelecidos têm sido observadas, como a co-ocorrência de citocinese simultânea e sucessiva em um mesmo estame (SANIER *et al.*, 2006), ocorrência de citocinese intermediária entre os tipos habituais - em que há formação de uma parede celular efêmera – (FURNESS, RUDALL & SAMPSON, 2002), formação da parede interespórica centripetamente (NADOT *et al.*, 2006; PENET *et al.*, 2005), bem como a presença de mais de um tipo de tétrade (HARDY, STEVENSON & KISS, 2000; HARDY & STEVENSON, 2000; PENET *et al.*, 2005; SANIER *et al.*, 2006; NADOT *et al.*, 2006; RESSAYRE, 2001; PETTIT, 1981). Estes trabalhos demonstram que o tipo de citocinese influencia no tipo de tétrade que se forma ao final da meiose e que esta característica determina a posição da abertura no grão de pólen (FURNESS & RUDALL, 1999 e 2003; FURNESS, RUDALL & SAMPSON, 2002; PENET *et al.*, 2005; NADOT *et al.*, 2006; SANIER *et al.*, 2006). Esses caracteres embriológicos durante o processo da androsporogênese têm se demonstrado muito úteis para a filogenia de determinados grupos de monocotiledôneas (FURNESS & RUDALL, 1999). Apenas o estudo feito por WIEGAND

(1899), em *Potamogeton foliosus* Raf. descreve a ontogênese dos estratos parietais da antera neste gênero e os eventos de androsporogênese e androgametogênese.

Em plantas com polinização submersa é muito freqüente a formação de flores cleistogâmicas (ex. *Subularia*) e, mesmo quando a polinização cruzada ocorre, não há registro de mecanismos de auto-incompatibilidade. Em espécies onde a polinização ocorre, o pólen é transportado em suspensão e apresenta adaptações morfológicas específicas (JOHRI *et al.*, 1992; ENDRESS, 1994), dentre elas: apresenta-se agrupado em filamentos mucilaginosos, em cadeias de tétrades lineares, filamentosos com exina fina e maleável, germina dentro da antera e é liberado com o tubo polínico desenvolvido, ou se mantém protegido dentro de uma bolha de ar. Todas estas variações morfológicas e fisiológicas auxiliam na captura deste pólen pelos estigmas, os quais também podem ser filamentosos e ramificados (PETTITT & JERMI, 1975; PETTITT *et al.* 1980; DUCKER & KNOX, 1976).

O pólen de espécies de *Potamogeton* é inaperturado (PETTITT & JERMI, 1975; PERVEEN, 1999; SORSA, 1988; FURNESS & RUDALL, 1999). Este tipo de pólen é predominante em Alismatales e ocorre em grande número de grupos das monocotiledôneas (FURNESS & RUDALL, 1999a, 2001a), e também parece estar relacionado com a hidrofilia (FURNESS & RUDALL, 1999a, 2003).

PETTITT & JERMI (1975) demonstraram que em *Potamogeton natans* L. e *P. pectinatus* L., características da exina confirmam os indícios de hidrofilia na família. PHILBRICK (1988) caracterizou a polinização como anemófila na maioria das espécies de Potamogetonaceae. No entanto, este mesmo autor descreve a polinização hidroautogâmica em *P. pusillus* L., como um sistema pelo qual o pólen é transportado na superfície em uma bolha de ar, da antera até o estigma de uma mesma flor, mas não se move de flor a flor (PHILBRICK e ANDERSON 1987, apud PHILBRICK, 1988). Nesse caso, pólen e estigma permanecem funcionalmente secos mesmo quando a flor é completamente submersa. GUO & COOK (1989) confirmam este tipo de polinização abaixo da água através de bolhas em *Potamogeton pectinatus*, a partir de observações em aquário. LES (1988) e LES e colaboradores. (1997) também relatam a ocorrência

desse sistema em algumas espécies de *Potamogeton*, contudo sob a denominação de hidrofilia.

Por existirem divergências, quanto à sistemática e tipo de polinização, em espécies de *Potamogeton*, os estudos da ontogênese da antera e da morfologia do grão de pólen podem ser úteis para esclarecimento do relacionamento entre as espécies e do mecanismo de dispersão do pólen de espécies hidrofílicas. O presente trabalho tem como objetivo estudar o desenvolvimento da antera e descrever os caracteres embriológicos relacionados a este órgão em *Potamogeton polygonus*.

2 OBJETIVOS

- Descrever a ontogênese das anteras da espécie, em microscopia eletrônica de varredura;
- Descrever a origem e alterações morfológicas dos estratos parietais, em microscopia óptica;
- Descrever os eventos de androsporogênese e androgametogênese, em microscopia óptica.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETAS E FIXAÇÃO

O material botânico foi coletado em lagoas, da Fazenda Santa Cândida, e no rio Salto Amazonas, trecho que passa na Fazenda Lajeado Grande, no Município de General Carneiro, Estado do Paraná (fig. 2 e 3). As inflorescências com botões em diversos estádios de desenvolvimento foram fixados no momento da coleta, em glutaraldeído 1% e formaldeído 4%, em tampão fosfato de sódio 0.1M, pH 7.2 (MCDOWELL & TRUMP, 1976), para processamento e análise em microscopia óptica e, em FAA70 (5:5:90v/v) (JOHANSEN, 1940), para processamento e análise microscopia eletrônica de varredura.

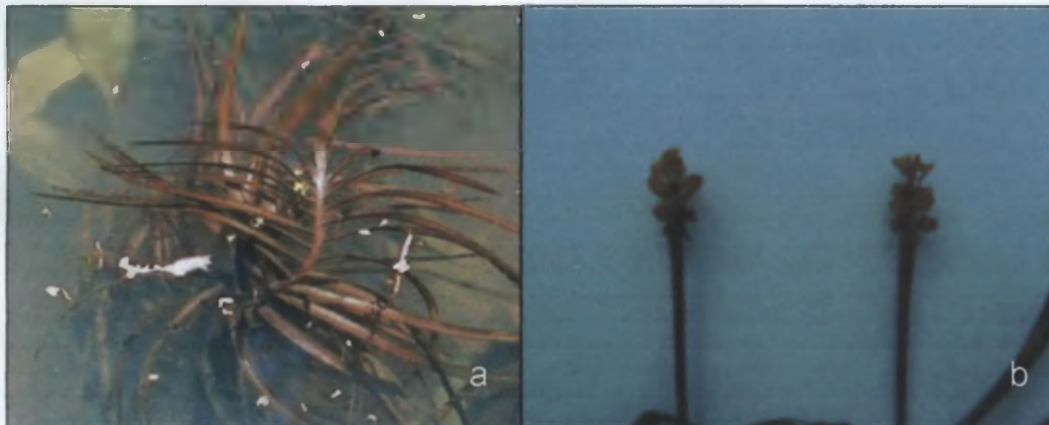


FIGURA 2 – *Potamogeton polygonus*: a) ramo ; b) inflorescências

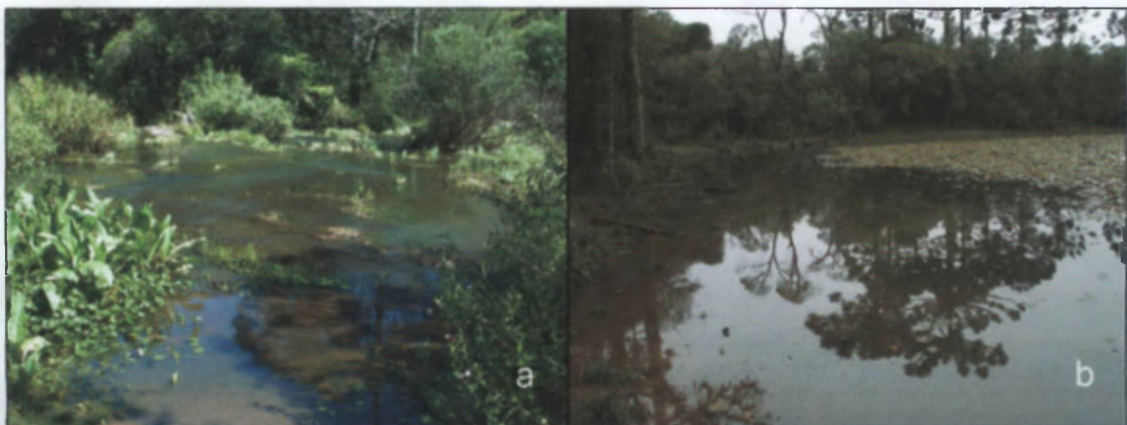


FIGURA 3 – LOCAIS DE COLETA: a) Rio Salto Amazonas; b) Lagoa da Fazenda Santa Cândida

3.2 MICROSCOPIA ÓPTICA

O processamento do material foi feito no Laboratório de Botânica Estrutural, no Departamento de Botânica/UFPR. O material foi lavado em tampão fosfato pH 7.2, 0,1M, desidratado em série etílica ascendente e incluído em hidroxetilmetacrilato (GERRITS & SMID, 1983). Os blocos foram seccionados, em micrótomo de rotação Leica® RM 2145, com espessura de 5 e 1,5 micrometros, em navalhas de aço e de vidro, respectivamente. As secções foram coradas em Azul de Toluidina O 0,05% 0.1M em tampão fosfato de sódio pH 6.8 (O'BRIEN *et al.*, 1965) e montadas entre lâmina e lamínula em resina sintética (Permout ®).

Foram realizados os seguintes testes histoquímicos em anteras maduras: Sudan III, para a identificação de lipídeos totais (O'BRIEN & MCCULLY, 1981); reação com IKI, para amido (JOHANSEN, 1940); Coomassie Brilliant Blue 0,25% em ácido acético 7%, para detecção de proteínas totais (SOUTHWORTH, 1973); Vermelho de Rutênio, para detecção de ácidos pécicos (JENSEN, 1962); Floroglucinol acidificado para identificação de lignina (JOHANSEN, 1940).

As análises microscópicas e registros fotomicrográficos foram realizados no microscópio óptico Zeiss Axiolab com câmera fotográfica digital (Sony® PC200) acoplada.

A localização de calose foi feita através de reação fluorescente com Azul de Anilina no Microscópio Zeiss Axiophot com filtro UV 340-380nm (MARTIN, 1959), no Departamento de Biologia Celular/UFPR.

Com a finalidade de melhor observar a estrutura da exina dos andrófitos, realizou-se acetólise desses segundo protocolo de ERDTMAN, (1952).

3.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

O processamento do material foi feito no Centro de Microscopia Eletrônica (CME/UFPR). O material foi dissecado e desidratado em série ascendente de propanona e submetido a ponto crítico, no aparelho BAL-TEC CPD 030. As amostras foram montadas em suporte metálico, com uma mistura de esmalte incolor e grafite e metalizadas com ouro, em sistema "sputter", no equipamento SCD 030 Balzers Union FL 9496. As observações foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM 6360LV.

3.4 MANUTENÇÃO DE EXEMPLARES EM AQUÁRIO

Exemplares coletados em março de 2006, em General Carneiro, foram mantidos em aquário, com substrato apropriado, sob aeração constante e fotoperíodo de doze horas. Alguns desses exemplares formaram inflorescências, que tiveram seu desenvolvimento acompanhado e forneceram material fresco, para os testes histoquímicos realizados.

4 RESULTADOS

4.1 DESENVOLVIMENTO FLORAL

Cada inflorescência pode apresentar de seis a doze flores dispostas em verticilos de três flores no eixo. As flores se desenvolvem sincronicamente caracterizando uma inflorescência do tipo espiga. Frequentemente, a flor ou as flores apicais pode apresentar um retardo ou assincronia no desenvolvimento, quando comparado com outras flores basais da mesma inflorescência.

No meristema floral, primeiro surgem os primórdios de tépalas laterais e depois os primórdios adaxial e abaxial juntos (fig. 4a, b). A ordem de surgimento dos primórdios de estames segue a mesma ordem do verticilo de tépalas. Os estames surgem de primórdios individualizados opostos aos primórdios de tépalas (fig. 4a). Inicialmente, cada primórdio de estame apresenta formato alongado e, posteriormente, adquire formato bilobado, devido ao maior desenvolvimento das porções laterais (fig. 4a, b, c). Tal processo resulta na formação de um sulco que se inicia na região mediana do primórdio, no sentido súpero-inferior, e limita as regiões aonde irão se desenvolver as tecas de cada estame (fig. 4d, e, f). Neste estágio de desenvolvimento, o ápice floral apresenta-se quadrangular e inicia a formação dos quatro primórdios de carpelo em cada vértice. Os primórdios de carpelos são individualizados, circulares e alternados aos primórdios estaminais (fig. 4e).

No estágio seguinte, são formados dois outros sulcos, nas regiões medianas de cada teca, culminando na diferenciação dos esporângios (fig. 5a, b). Concomitantemente, as margens dos primórdios circulares de carpelos desenvolvem-se e delimitam o espaço do lóculo carpelar. O carpelo se fecha para formar o estilete e resta uma abertura em forma de fenda, na porção ventral estigmática (fig. 5a, b).

Os estames maduros possuem anteras semi-sésseis, bitecas e tetraesporangiadas, que atingem seu tamanho final antes da completa formação dos carpelos (fig. 5b). A flor, em pré-antese, é caracterizada pelo recobrimento dos estames e carpelos pelas tépalas (fig. 5c). As anteras são extrorsas e as tecas são

distantes entre si, unidas apenas pela região mediano-basal do conectivo (fig. 5d). O estigma é papiloso e se desenvolve nas margens da fenda (fig. 5e, f). Observou-se que a deiscência longitudinal das mesmas ocorre concomitante a receptividade dos estigmas (fig. 5e). Foi observada a presença de grãos de pólen nos estigmas de flores em antese, com tubos polínicos desenvolvidos (fig. 5f).

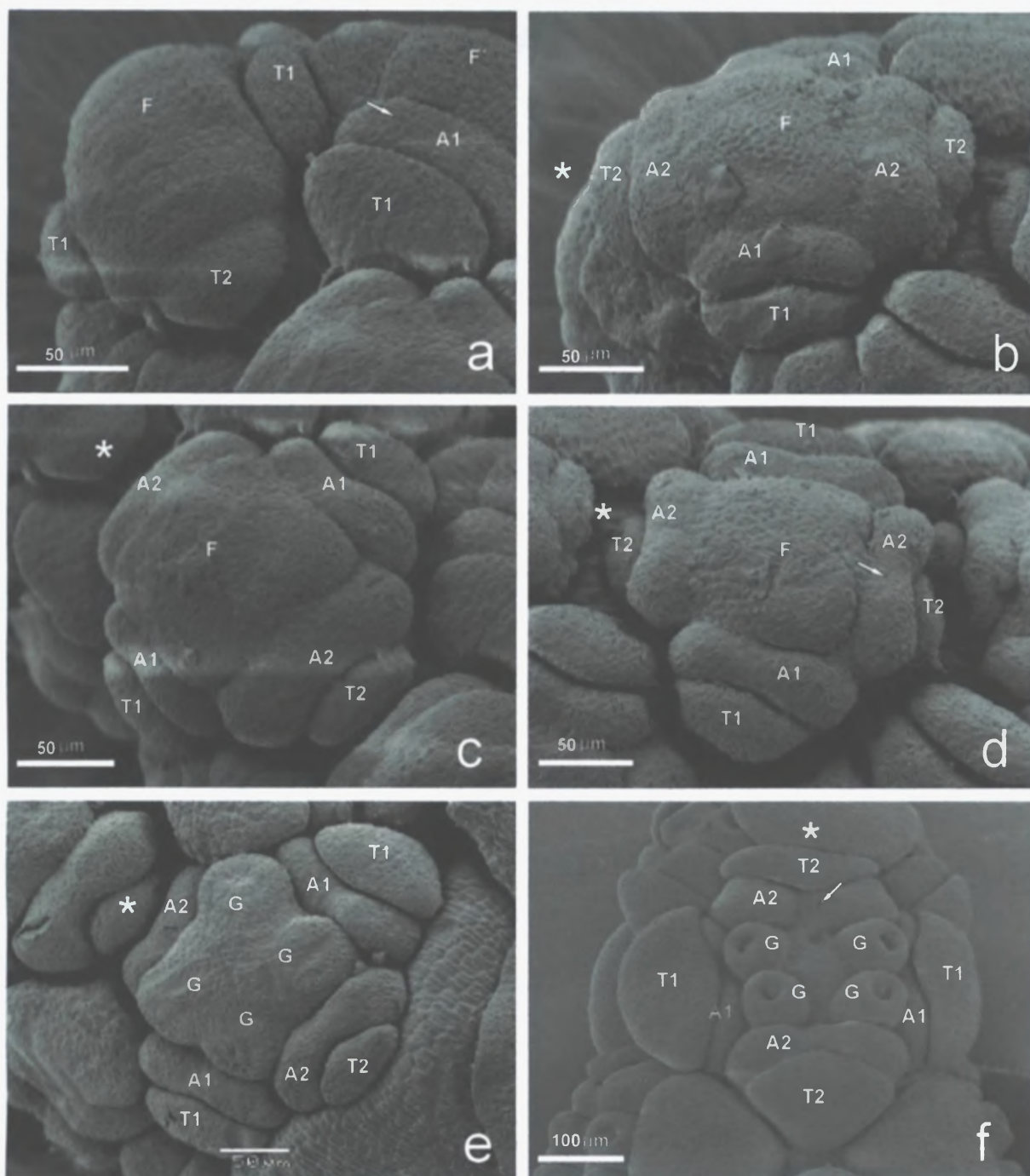


Figura 4 - Desenvolvimento Floral em MEV: a) iniciação dos primórdios de tépalas laterais antes dos primórdios adaxial e abaxial no meristema floral. Seta mostrando a iniciação do estame lateral uniprimordial; b) meristema floral com todos os primórdios de tépalas e estames já formados; c) ápice do meristema floral quadrangular antes da formação dos carpelos. Verticilo de tépalas e estames já formado; d) tépalas laterais mais volumosas que a adaxial e abaxial. Primórdio de estames iniciando a formação do sulco que delimita as tecas (seta); e) iniciação da formação dos quatro primórdios carpelares circulares simultâneos; f) primórdios dos carpelos em desenvolvimento, em início da delimitação do espaço do lóculo carpelar; Sulco que delimita tecas (seta). A - primórdio de estame; F - meristema floral; G - primórdios de carpelo, T - primórdio de tépala. Os números adjacentes às letras indicam a ordem de iniciação dos órgãos. O asterisco indica a região adaxial da flor.

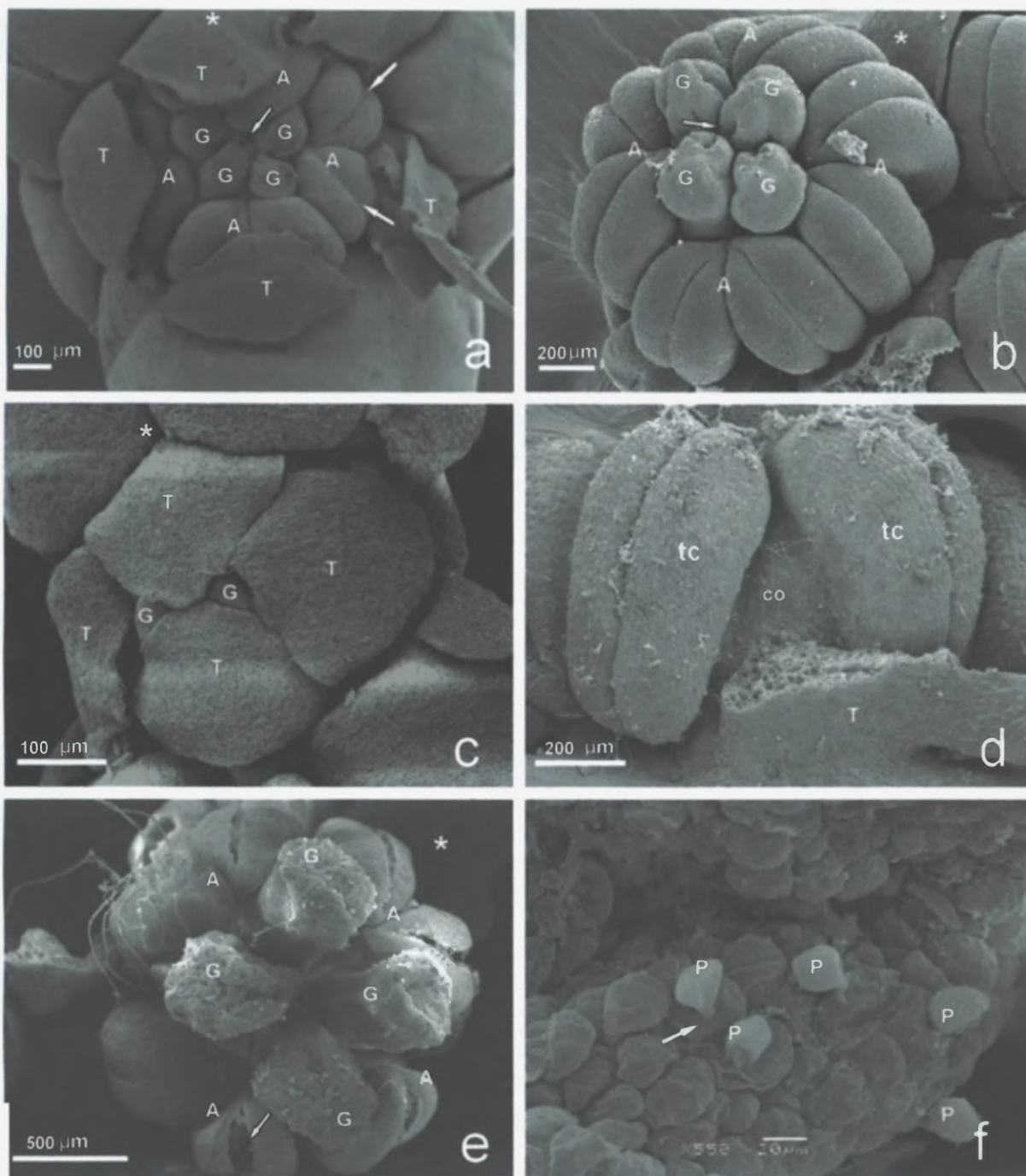


Figura 5 - Desenvolvimento Floral em MEV: a) meristema floral com tecas diferenciadas e sulcos (setas) que marcam os esporângios, carpelos em desenvolvimento, com fendas em posição aproximadamente ventral; b) aspecto geral de um botão floral, com tépalas removidas, anteras desenvolvidas e carpelos em desenvolvimento, com fendas em posição ventral; c) botão floral em pré-antese; d) anteras extrorsas em sua configuração final; e) flor em antese, com anteras abertas (seta) e grãos de pólen nos estigmas; f) detalhe da superfície do estigma papiloso com grãos de pólen germinando (seta). A - estame, G - carpelo; T - tépala, co - conectivo, p - grão de pólen, tc - teca. O asterisco indica a região adaxial da flor.

4.2 ONTOGÊNESE DOS ESTRATOS PARIETAIS

O primórdio de estame surge como uma pequena expansão com células indiferenciadas, logo acima da tépala, e em seguida, é organizado em protoderme, meristema fundamental e procâmbio (fig. 7a,b). A protoderme sofre divisões anticlinais acompanhando o crescimento do órgão e suas células se diferenciam, diretamente, na epiderme. O procâmbio fica limitado a um grupo de células de citoplasma mais denso na região central do primórdio e dará origem a um feixe vascular. O meristema fundamental origina o tecido parenquimático do conectivo da antera e o tecido esporogênico. A diferenciação do tecido parenquimático do conectivo inicia nas células centrais, mais próximas ao procâmbio, com a vacuolação e o aumento em volume (fig. 7b,c). As células deste tecido em diferenciação continuam a se dividir e o primórdio toma uma forma bilobada. Na periferia de cada lobo encontram-se células meristemáticas indiferenciadas que irão formar as tecas.

No estágio seguinte, ocorre a vacuolação das células medianas para a formação dos septos e a formação do sulco que separa os quatro esporângios (fig. 7d,e,f). Cada esporângio é formado a partir de um grupo de células meristemáticas: as células iniciais do esporângio (fig. 7d,e,f). A formação da parede de cada esporângio inicia-se com a diferenciação de células iniciais do esporângio adjacentes a protoderme, as quais formam diretamente o estrato parietal primário (Ep1) (fig. 7d). As células da Ep1 dividem-se periclinamente, originando os estratos parietais secundários externo (Ep2e) e interno (Ep2i) (fig. 8 a,b). As células do Ep2e se diferenciam diretamente no endotécio, enquanto que as células do Ep2i sofrem divisões periclinais, originando duas camadas médias e o tapete (fig. 8c,d,e,f). Essas características enquadram a formação dos estratos parietais da espécie no tipo monocotiledôneo (DAVIS,1966), como sumarizado no diagrama abaixo:

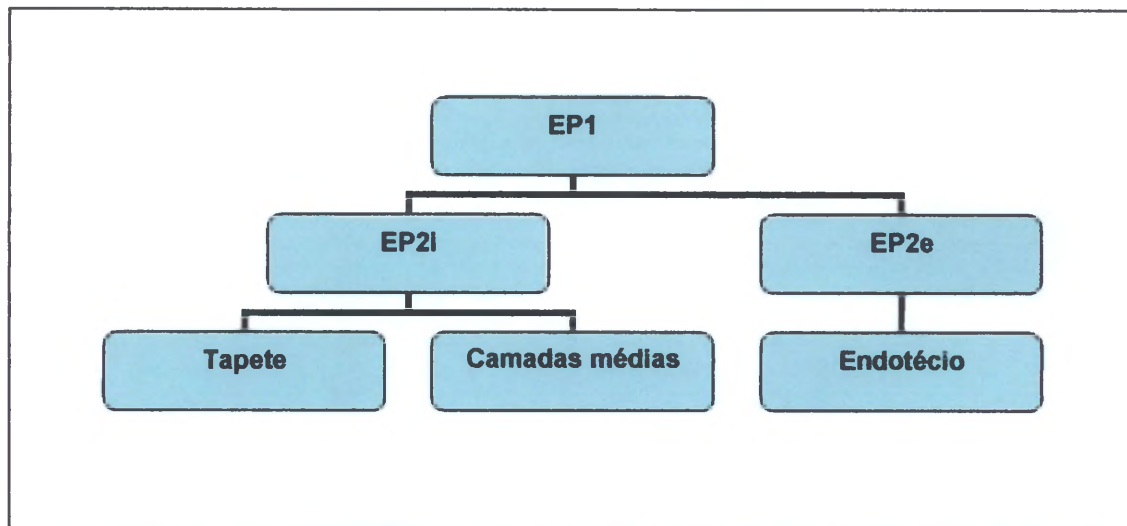


FIGURA 6 – DIAGRAMA EXPLICATIVO DA FORMAÇÃO DOS ESTRATOS PARIETAIS

O tapete interno é formado a partir de divisões periclinais do tecido meristemático inicial, na região próxima ao conectivo, tendo, portanto, uma origem diferente do tapete externo (fig. 8b).

Durante a meiose das CMA, as camadas médias, que inicialmente, possuíam células alongadas e justapostas são obliteradas (fig. 8e,f). Durante esse período, o tapete - antes uniestratificado, com células de formato irregular e uninucleadas - sofre transformações que permitiram classificá-lo como do tipo plasmodial (fig. 8f) . Suas células passam a apresentar dois núcleos, desprendem-se umas das outras, adquirem forma amebóide e, migram para o interior do lóculo (fig. 9a,b,c,e). Notou-se, durante a meiose e também na fase de andrósporos livres, a presença de uma matriz entre os grãos, derivada das células do tapete - o periplasmódio - que desaparece antes da primeira divisão mitótica do andrósporo (fig. 9e).

O endotécio apresenta células grandes, poliédricas, com espessamentos espiralados nas paredes celulares e, permanece íntegro até a fase de andrósporos livres (fig. 9c). Os espessamentos de parede no endotécio são de origem celulósica, não foi detectada a presença de lignina (Tabela 1). O endotécio armazena amido nas células sob a forma de grandes grânulos até essa fase (fig. 10a).

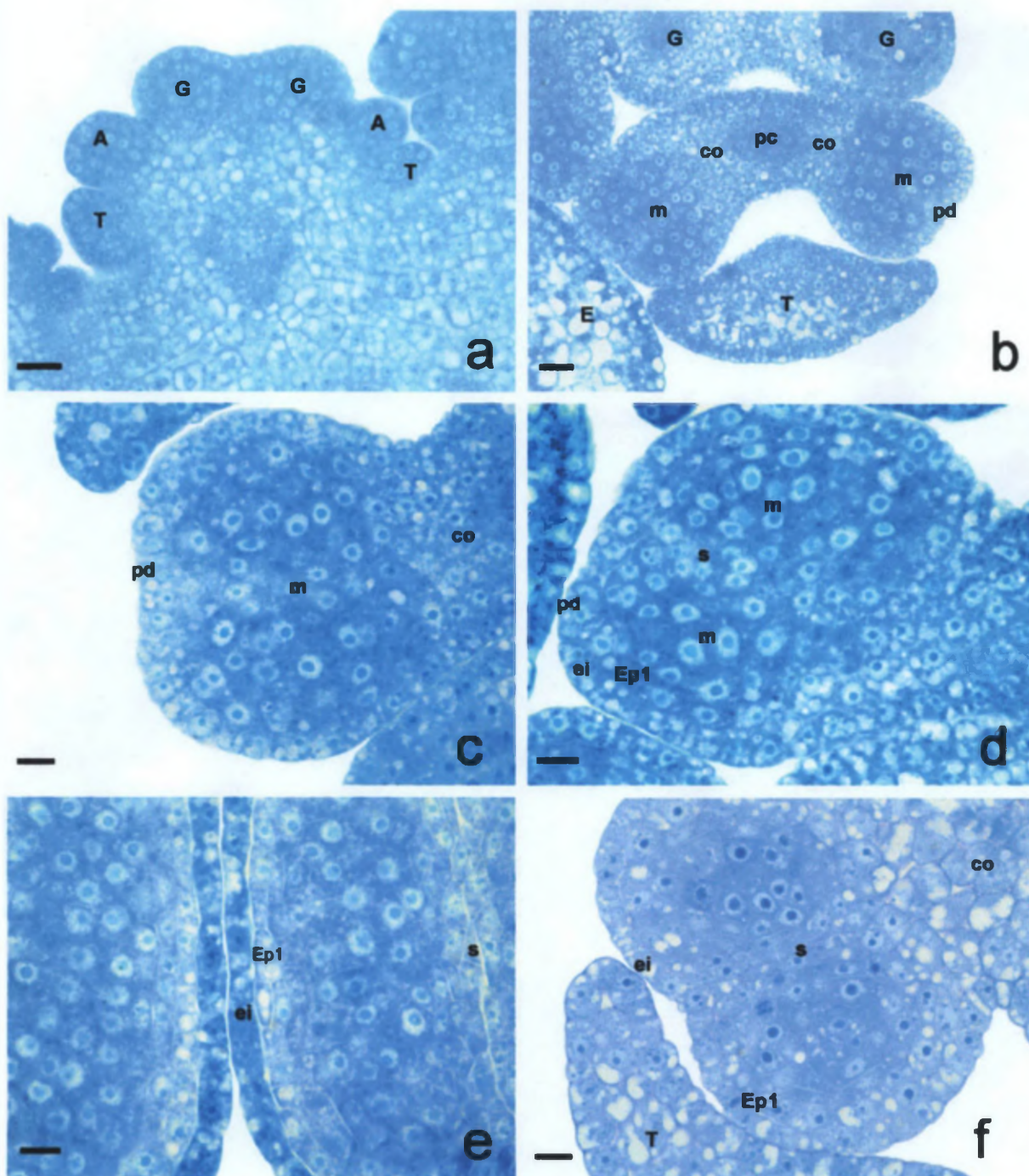


FIGURA 7 - Ontogênese da antera em MO: Corte longitudinal do botão floral em a. Corte transversal do estame em b, c, d e f. Corte longitudinal da antera em e. Coloração com Azul de Toluidina O em todas as figuras. a) meristema floral com primórdios de tépalas, estames e carpelos; b) antera bilobada, com tecidos meristemáticos; c) detalhe da antera, tecidos meristemáticos e início da diferenciação das células do conectivo; d) diferenciação do Ep1 e início da diferenciação das células do septo interloocular; e) Ep1, septo e epiderme estabelecidos e tecido meristemático no centro do lóculo; f) células iniciais do esporângio em divisão. A - primórdio de estame, E - eixo da inflorescência, Ep1 - estrato parietal primário, Ep2e - estrato parietal secundário externo, Ep2i - estrato parietal secundário interno, G - primórdio de carpelo, S - septo interloocular, T - primórdio de tépala/tépala, co - células meristemáticas na região do conectivo, ei - epiderme, m - meristema fundamental, pc - procâmbio, pd - protoderme. Barra de escala = 10µm em todas as figuras, exceto em b (= a 20µm).

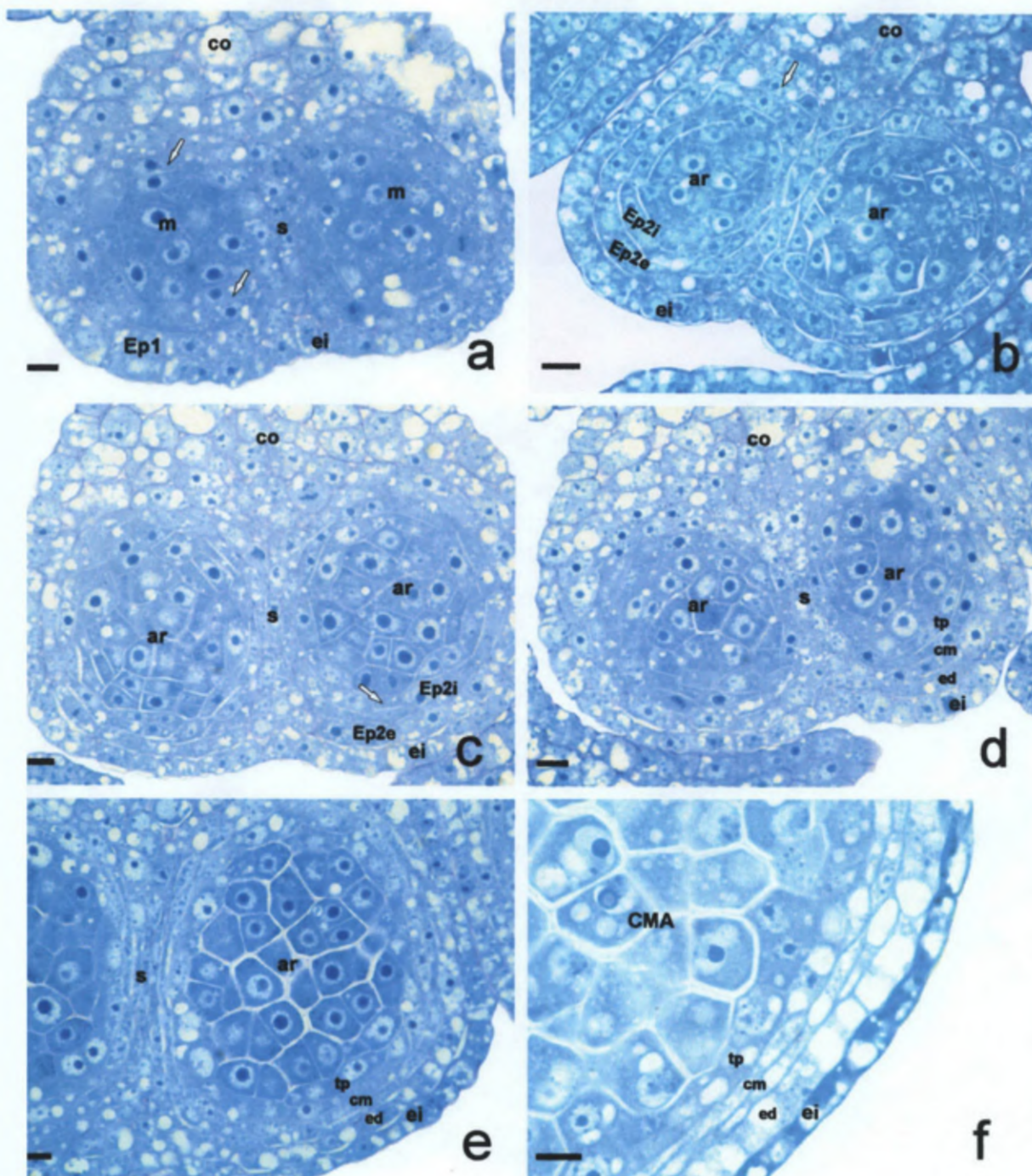


FIGURA 8 - Ontogênese dos estratos parietais e início da androsporogênese em MO: Coloração com Azul de Toluidina O em todas as figuras. a) antera com septo interloocular em diferenciação; divisões nas células iniciais do esporângio adjacentes ao conectivo (setas); b) antera com Ep2e, Ep2i e arquespório diferenciados, observam-se divisões periclinais do tecido conectivo (seta); c) divisões periclinais de células do Ep2i; d) estratos parietais formados; e) células do arquespório em interfase pré-meiótica; f) início da prófase I das CMA. CMA - células-mãe dos andrósporos, Ep1 - estrato parietal primário, Ep2e - estrato parietal secundário externo, Ep2i - estrato parietal secundário interno, S - septo interloocular, ar - arquespório, cm - camadas médias, co - conectivo, ed - endotécio, ei - epiderme, m - células meristemáticas iniciais do esporângio, tp - tapete. Barra de escala = 10µm em todas as figuras.

4.3 ANDROSPOROGÊNESE

As células iniciais do esporângio remanescentes em cada lobo da antera se dividem e suas derivadas originam o arquespório (fase de interfase pré-meiótica) (fig. 8e). As células-mãe de andrósporo (CMA), em início de prófase meiótica, são grandes e poliédricas (fig. 8f). Durante a meiose as CMA assumem um formato mais arredondado (fig. 9a). Dentre as fases da meiose das CMA, foram observadas prófase I, anáfase I, telófase I e telófase II (fig. 8f, 9a,b,c). A citocinese meiótica é sucessiva, formando, inicialmente, díades com uma delgada parede de calose e após a meiose II, tétrades irregulares, decussadas e tetragonais (fig. 9b, c,d,e).

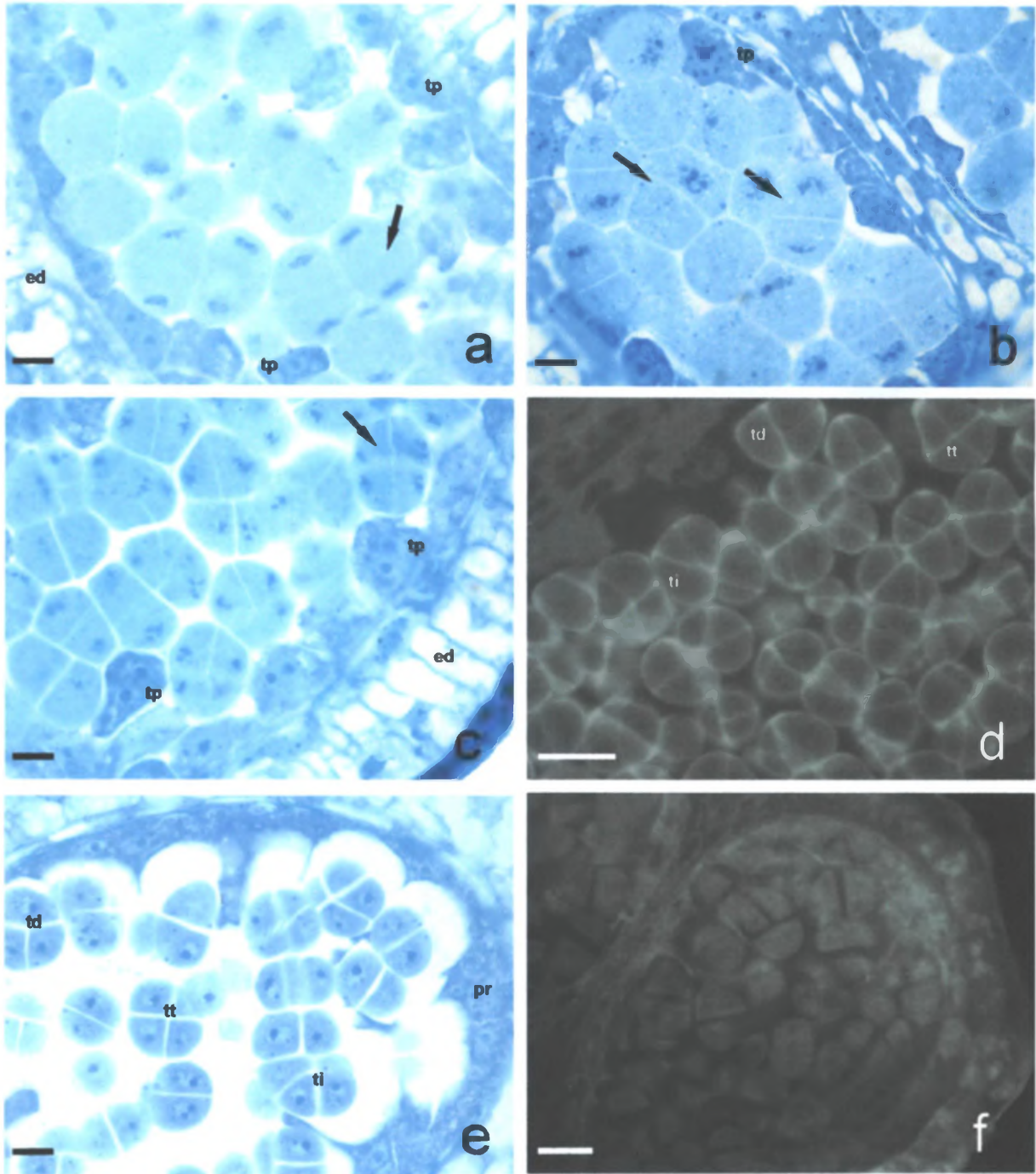


Figura 9 - Androsporogênese: Coloração com Azul de Toluidina O em a, b, c e e. Reação fluorescente com Azul de Anilina em d e f. a) CMA em anáfase I (seta); b) células em telófase I (seta); c) células em telófase II (seta) e célula binucleada do tapete migrando para o interior do lóculo; d) tétrades com parede de calose; e) dissolução das paredes de calose no final da meiose; f) mesmo estágio que o anterior, androsporos sem parede de calose. ei- epiderme, ed- endotécio, pr - periplasmódio, td - tétrade decussada, ti - tétrade irregular, tp - tapete, tt- tétrade tetragonal. Barra de escala= 10 μ m em todas as figuras.

4.4 ANDROGAMETOGÊNESE

O início da androgametogênese é marcado pela formação de um grande vacúolo no andrósporo, ocasionando o deslocamento do núcleo para a periferia da célula, ficando próximo à parede (fig. 10b). É nesse estágio que as células do septo que separam os esporângios degeneram. A primeira divisão mitótica do andrósporo é desigual, originando uma célula generativa lenticular, parietal e menor que a célula vegetativa e, ambas são separadas por suas paredes celulares (fig. 10c). Em um estágio posterior, observa-se que a célula vegetativa engloba a generativa e, finalmente, a célula generativa sofre divisão mitótica, resultando em duas células espermáticas (fig. 10 d,e).

Ocorre a síntese de amido nos andrófitos durante a gametogênese (fig. 10f). A intina no andrófito maduro é composta por ácidos pécticos e a exina apresenta proteínas em sua superfície (fig. 11a e tabela1). Não foi constatada a presença de lipídeos em nenhum tecido nas anteras maduras. Os grãos de pólen maduros são liberados no estágio tricelular com reserva de amido. Os resultados dos testes histoquímicos estão sintetizados na TABELA 1. Além disso, o andrófito é inaperturado, possui exina delgada, reticulada e formato esferoidal (fig. 11 b,c,d).

TABELA 1 - TESTES HISTOQUÍMICOS

Reagente	Resultado	Sítio de Reação	Substância Reativa
Coomassie Blue	+	Exina	Proteínas totais
IKI	+	Citoplasma/amiloplastos	Amido
Floroglucinol	-	Não há	Lignina
Sudam III	-	Não há	Lipídeos totais
Vermelho de Rutênio	+	Intina	Ácidos Pécticos

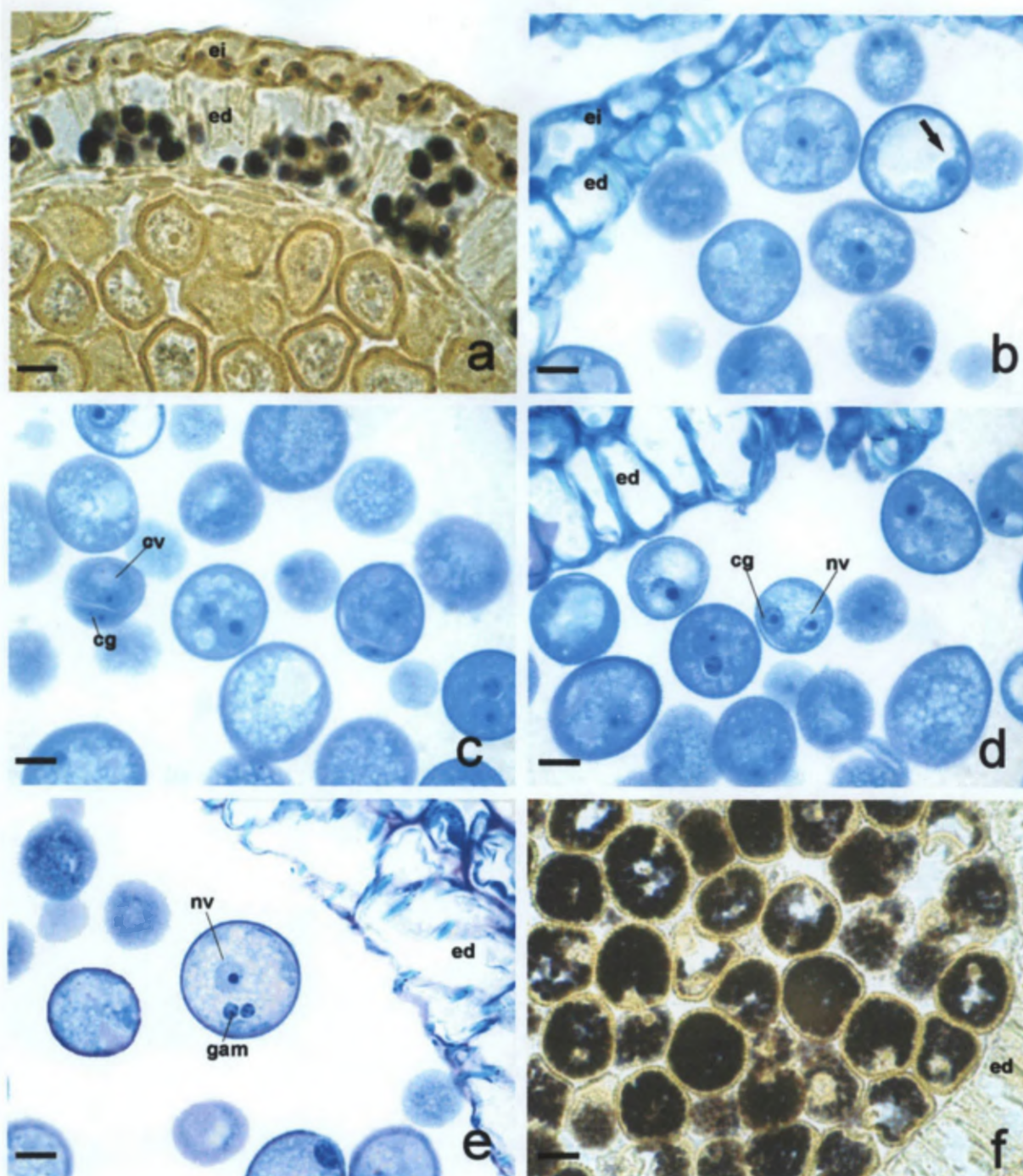


FIGURA 10 - Androgametogênese: Reação com IKI em a e f e coloração com Azul de Toluidina O nas outras figuras. a) grãos de amido no endotécio e epiderme na fase de micrósporos livres; b) núcleo do andrósporo em posição parietal (seta); c) célula generativa parietal; d) célula generativa englobada pela célula vegetativa; e) grão de pólen em estágio tricelular, com as células espermáticas unidas; f) mesma fase de a, mostrando grãos de amido nos andrósporos. ed- endotécio, ei - epiderme, cg - célula generativa, cv- célula vegetativa, gam - células espermáticas, nv - núcleo da célula vegetativa. Barra de escala = 10µm em todas as figuras.

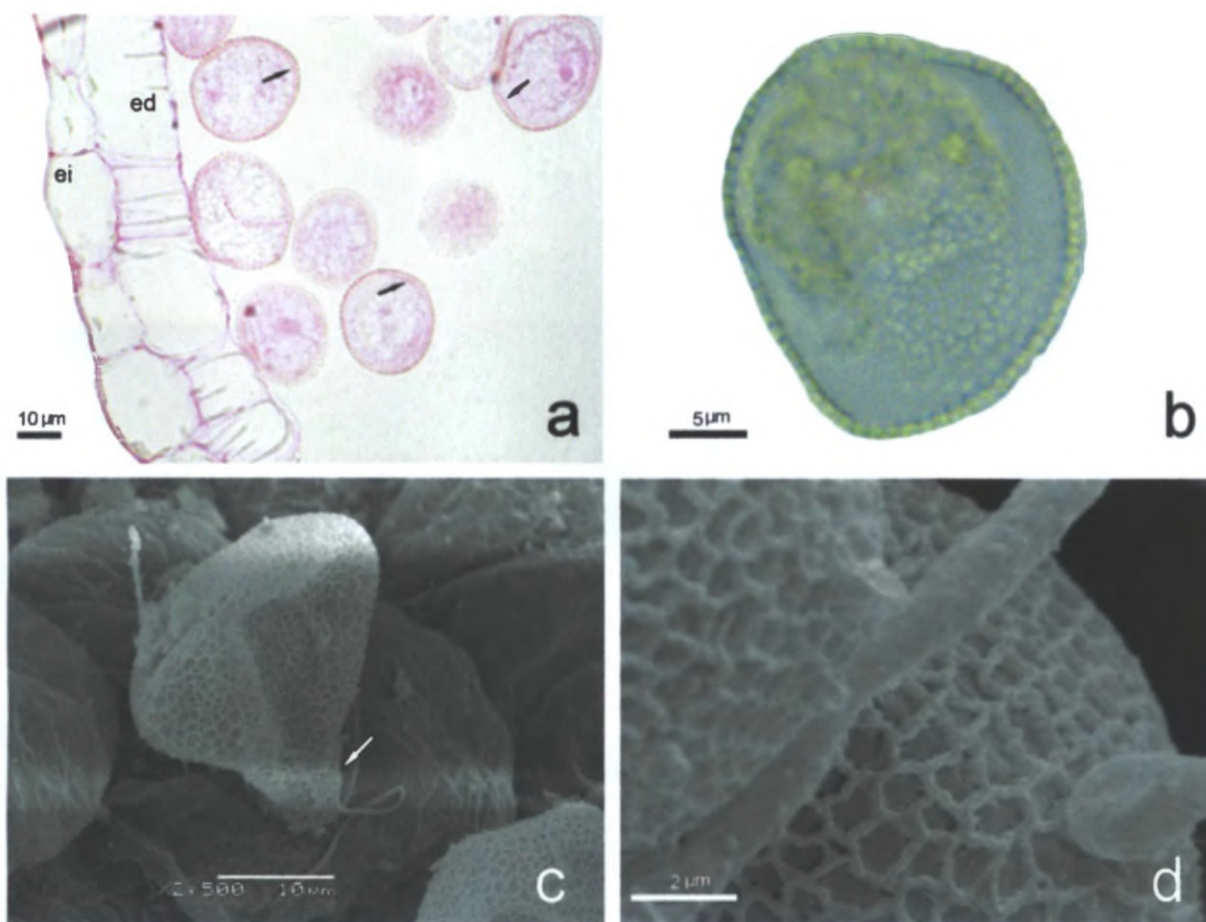


FIGURA 11. Características do andrófito: Fotomicrografia em a e b. Eletromicrografia em MEV em c e d. a) identificação de ácidos pécticos na intina do andrófito jovem (setas), através do teste com Vermelho de Rutênio; b) grão de pólen acetolisado com exina reticulada; c) detalhe da superfície

5 DISCUSSÃO

A interpretação da flor em *Potamogeton* tem sido alvo de discussões por diversos autores desde o século XIX. Alguns autores a interpretam como uma inflorescência formada por quatro flores reduzidas estaminadas, circundando quatro inflorescências reduzidas pistiladas (KUNTH, 1841; MIKI, 1937 e UHL, 1947, *apud* SINGH, 1965). As evidências suportando essa hipótese são: a posição oposta das tépalas às anteras; a grande distância entre as tecas da antera; a origem da antera bi-primordial e as tépalas como apêndices do conectivo da antera. Estudos mais recentes sobre a evolução das flores em Alismatidae demonstram que existe uma grande diversidade nas estruturas reprodutivas, inclusive de formas intermediárias entre flor e inflorescência (POSLUSZNY & CHARLTON, 1986; 1991).

No entanto, os estudos sobre a ontogênese da inflorescência demonstraram que a “unidade reprodutiva” de *Potamogeton* pode ser uma flor simples (SATTLER, 1965; SINGH, 1965; POSLUSZNY & SATTLER, 1973 e 1974). Em um estudo de anatomia vascular floral realizado com oito espécies de *Potamogeton*, SINGH (1965) concluiu que as tépalas são componentes do perianto. Neste gênero, o perianto surge antes dos primórdios de estames, e não como expansões do conectivo (SATTLER, 1965; POSLUSZNY & SATTLER, 1974). Essa ordem de iniciação dos primórdios de tépalas e estames também foi constatada neste estudo com *P. polygonus*. Em *P. densus* L. (POSLUSZNY & SATTLER, 1973) e *P. zosteriformis* Fern. (POSLUSZNY, 1981) os estames laterais surgem como dois primórdios independentes que se fundem, posteriormente, para formar uma antera tetraesporangiada. POSLUSZNY & SATTLER (1973) consideraram que este evento ontogenético poderia ser uma evidência a mais para corroborar com a hipótese formulada por Miki, em 1937, de que o estame na flor de *Potamogeton* seria derivado da redução de uma inflorescência. Entretanto, eles não encontraram evidências de ter ocorrido a fusão de dois primórdios de estames, a redução do número de sacos polínicos e mudanças na vascularização. Além disso, em *P. richardsonii* (A.Benn.) Rydb., todos os estames são iniciados como primórdios individualizados (POSLUSZNY & SATTLER, 1974). Por esses motivos, os autores

continuaram aceitando a estrutura como flor em *Potamogeton*. POSLUSZNY (1981) demonstra que os caracteres ontogenéticos, unidos a outros caracteres morfológicos, podem ser úteis na interpretação da relação entre as espécies. Em *P. polygonus*, todos os estames são uni-primordiais como visto em *P. richardsonii*. Nesse estudo, foi adotada a interpretação de que *P. polygonus* apresenta flores tetrâmeras, com quatro tépalas, quatro estames semi-sésseis, constituídos por anteras bitecas e tetraesporangiadas, além de quatro carpelos livres.

RUTISHAUSER (1982) discute a evolução do arquespório na antera das Angiospermas, confrontando os resultados descritos por Warming, em 1873, Schnarf 1929, e Maheshwari, em 1950, e conclui que células subepidérmicas meristemáticas do primórdio da antera se dividem periclinamente e originam: uma célula parietal primária, para fora, e uma célula esporogênica, para dentro. Segundo este conceito, a célula parietal primária originará todos os estratos parietais da antera, enquanto que a célula esporogênica pode ter dois destinos: se diferenciar diretamente em célula do arquespório, ou se dividir, e suas derivadas, em número variável de acordo com a espécie, se diferenciam em células do arquespório. Este padrão de formação do arquespório é amplamente adotado por embriologistas e ocorre na maioria das espécies descritas até hoje. No entanto, em *P. polygonus* não foi encontrado este padrão. Não existe apenas uma camada de células meristemáticas subepidérmicas, mas um grupo de células meristemáticas indiferenciadas que são isoladas em quatro pólos do primórdio do estame. As células subepidérmicas meristemáticas se diferenciam diretamente na Ep1, sem uma divisão periclinal anterior, enquanto que o tecido do arquespório deriva das outras células meristemáticas remanescentes. Estes resultados também discordam da única descrição detalhada feita para o gênero por WIEGAND (1899). Os eventos descritos para *P. polygonus* são mais semelhantes aos descritos anteriormente nas anteras de *Ilex paraguariensis* St. Hill., por SANTOS (1993).

Durante o desenvolvimento da antera são formados quatro estratos parietais: endotécio, duas camadas médias efêmeras e tapete. Estes resultados concordam com a descrição de caracteres embriológicos gerais na família Potamogetonaceae (JOHRI et

al.,1992). Segundo DAVIS (1966), os padrões de formação dos estratos parietais podem ser categorizados em quatro tipos em Angiospermas. Dentre esses tipos, *P. polygonus* melhor se enquadra no Monocotiledôneo, caracterizado pela diferenciação direta do Ep2e em endotécio e divisão periclinal do Ep2i, formando camada média e tapete.

Em relação à origem do tapete, nesse estudo encontraram-se evidências de que este possui dupla origem, com o tapete interno originando-se diretamente das células meristemáticas iniciais adjacentes ao conectivo. Diversos outros estudos demonstram a origem dupla do tapete, se referindo a diferença de origem entre o tapete externo, proximal a epiderme, e ao tapete interno, proximal ao tecido conectivo (VIJAYARAGHAVAN & RATNAPARKHI, 1975). Devido às características das suas células (perda das paredes celulares e fusão dos protoplastos), o tapete foi classificado como plasmodial. Esse dado concorda com a afirmação de que todas as Alismatales estudadas apresentam esse tipo de tapete, com exceção de *Tofieldia* (FURNESS & RUDALL, 1998,1999b, 2001a, 2001b). *Potamogeton polygonus* e *P. foliosus* diferem no número de núcleos nas células do tapete: no primeiro, as células são binucleadas durante a esporogênese, enquanto que, no segundo, as células são uninucleadas (WIEGAND, 1899).

Na antera madura, persistem apenas a epiderme e o endotécio com espessamentos nas paredes, como também observado em *P. foliosus* (WIEGAND, 1899). Outros autores, afirmam que na família Potamogetonaceae o endotécio não apresenta espessamentos fibrosos (JOHRI *et al.*,1992). WIEGAND (1899) descreveu a presença de uma camada média efêmera em *P. foliosus* enquanto que, em *P. polygonus*, foram encontradas duas.

Uma sequência de desenvolvimento difundida nas monocotiledôneas envolve a citocinese sucessiva (FURNESS & RUDALL, 1999, 2001; FURNESS, RUDALL & SAMPSON, 2002; NADOT *et al.*, 2006; PENET *et al.*, 2005;) e a formação da parede interespórica através de placas celulares centrífugas (NADOT *et al.*, 2006; PENET *et al.*, 2005). Em *P. polygonus* não foi possível caracterizar a maneira pela qual é formada a parede interespórica e, uma investigação mais profunda quanto a esse aspecto

deverá ser realizada, uma vez que algumas espécies com pólen inaperturado apresentam a combinação de citocinese sucessiva e formação da parede celular centrípeta (NADOT *et al.*, 2006).

Tem sido amplamente descrita em Monocotiledôneas a formação de mais de um tipo de tétrade no esporângio após a citocinese (HARDY, STEVENSON & KISS, 2000; HARDY & STEVENSON, 2000; PENET *et al.*, 2005; SANIER, 2006; NADOT *et al.*, 2006; RESSAYRE, 2001), inclusive em *Thalassia hemprichii* (Ehrenb.) Asch., uma planta aquática marinha (PETTIT, 1981). Em *P. polygonus* ocorrem três tipos de tétrade no esporângio: tetragonal, decussada e irregular. A presença de mais de um tipo de tétrade ainda não tinha sido descrita para o gênero *Potamogeton*. O tipo de citocinese e a tétrade formada podem influenciar no local de formação das aberturas (FURNESS & RUDALL, 1999a). No entanto, a variabilidade de tipos de tétrade para a formação de pólen inaperturado em *P. polygonus*, inclusive a ocorrência de tétrade irregular, corroboram com as suspeitas de que, em algumas espécies com pólen inaperturado, não há relação com o formato das tétrades (FURNESS & RUDALL, 1999b; NADOT *et al.*, 2006).

O pólen inaperturado também foi registrado em outras espécies de *Potamogeton* (PERVEEN, 1999; SORSA, 1988; FURNESS & RUDALL, 1999). Esse tipo de pólen é predominante em Alismatales, ocorre em grande número de grupos das monocotiledôneas (FURNESS & RUDALL, 2001a), e também parece estar relacionado com a hidrofilia (FURNESS & RUDALL, 1999, 2003). FURNESS & RUDALL (1999) diferenciam o pólen verdadeiramente inaperturado (omniaperturado) do tipo “funcionalmente monoaperturado”, baseado no espessamento da intina. No último tipo, existe uma região da esporoderme onde a intina é mais espessada e a exina fraca, que se rompe durante a protrusão do tubo polínico. Essas autoras descrevem também que em *Potamogeton* a intina é muito espessa em apenas um dos lados do pólen, mas os dados disponíveis a esse respeito são antigos e aconselha-se a utilização de microscopia eletrônica de transmissão, em estudos futuros, para melhor caracterizar este tipo de pólen.

Os diversos trabalhos de CLÉMENT e colaboradores (CLÉMENT *et al.*, 1994; CLÉMENT & AUDRAN, 1995; CLÉMENT, BURRUS & AUDRAN, 1996) demonstram que, em *Lilium*, todos os estratos parietais e a epiderme apresentam reserva de amido. Esta reserva é utilizada durante a fase de crescimento do estame, a qual inclui o desenvolvimento dos andrósporos e a diferenciação das camadas parietais da antera. WIEGAND (1899) destaca a ocorrência de grânulos de amido nos estratos parietais durante a gametogênese de *P. foliosus*. Em *P. polygonus*, os grãos de amido foram registrados apenas na epiderme e no endotécio durante a esporogênese. Ao final desta fase, o amido é quebrado e inicia um novo ciclo amilogênico no andrófito jovem, provavelmente para garantir o desenvolvimento do tubo polínico.

Táxons aquáticos com flores submersas são, normalmente, caracterizados por apresentarem pólen triclular, segundo os estudos de BREWBAKER (1957; 1967). Em *P. polygonus* foi registrada a presença de pólen triclular na antera madura, o que coincide com outros trabalhos na família Potamogetonaceae (WIEGAND, 1899; BREWBAKER, 1967; JOHRI I 1992). De acordo com BREWBAKER (1957), o pólen triclular é incapaz de germinar e formar tubo polínico na água ou mesmo em solução nutritiva. O Autor acredita que a habilidade de germinar indiscriminadamente na água é uma desvantagem em flores de espécies hidrofilicas. Ainda em relação a tal aspecto, WIEGAND (1899) afirma que, em *P. foliosus*, após a divisão da célula generativa, as duas células-filhas não se separam, mas permanecem conectadas como um corpo biclular, exatamente como o observado em *P. polygonus*. Esta proximidade íntima das duas células espermáticas tem sido descrita em trabalhos sobre a ultraestrutura do grão de pólen (JOHRI, 1984).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento das flores na inflorescência é acropétalo e os órgãos florais estão dispostos em verticilos. Há uma assincronia inicial entre os primórdios de tépalas e também entre os primórdios estaminais, que é equalizada ao longo do desenvolvimento. As anteras maduras de *P. polygonus* são semi-sésseis, bitecas e tetraesporangiadas.

A formação da parede da antera é do tipo Monocotiledôneo. Na antera madura persistem apenas epiderme e endotécio, este último com parede com espessamentos espiralados celulósicos e grãos de amido no citoplasma, até a fase de andrósporos livres. O tapete é do tipo plasmodial e apresenta origem dupla.

A divisão meiótica das CMA ocorre normalmente formando andrósporos viáveis. A citocinese é sucessiva, resultando em tétrades tetragonais, decussadas e irregulares.

Os grãos de pólen são inaperturados, apresentam esporoderme delgada, composta por intina péctica e exina reticulada com presença de proteínas na superfície. Além disso, são liberados das anteras no estágio tricelular com reserva de amido.

Esse estudo contribuiu para um maior conhecimento dos caracteres embriológicos da família Potamogetonaceae. Este estudo registra novos caracteres embriológicos para a família, e traz novas perspectivas para os trabalhos futuros com esse grupo. No entanto, outras informações serão acrescentadas com o uso da microscopia eletrônica de transmissão dos grãos de pólen e comparação de caracteres ontogenéticos da flor de outras espécies do gênero.

GLOSSÁRIO

Andrófito – gametófito masculino. Sinônimo de microgametófito. Em Angiospermas, corresponde ao grão de pólen.

Androgametogênese – produção dos gametas masculinos por mitose.

Andrósporo – célula haplóide resultante da divisão meiótica das células-mãe de andrósporos (CMA), no interior dos esporângios.

Androsporogênese – produção de esporos por meiose no esporângio masculino.

Célula-mãe de andrósporos – o mesmo que célula-mãe de micrósporos.

Pólen funcionalmente monoaperturado – apresenta uma região de saída do tubo polínico claramente definida, indicada por um espessamento localizado na intina; a exina é uniforme na superfície externa do grão de pólen.

Pólen Omniaperturado - toda a parede do pólen funciona como um possível sítio para o crescimento do tubo polínico; apresenta intina uniformemente espessada.

Periplasmódio – plasmódio cenocítico formado a partir da fusão dos protoplastos das células do tapete, após a perda de suas paredes celulares.

Tétrade – arranjo com formatos variáveis formado pelos quatro andrósporos resultantes da meiose da CMA.

Tétrade Decussada – tétrade formada por dois pares de andrósporos, formando ângulo de 90° entre si.

Tétrade Irregular – tétrade com formato intermediário aos habituais, com paredes interespóricas irregulares.

Tétrade Tetragonal – tétrade em que os quatro andrósporos estão dispostos em um mesmo plano.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONA, C.; CERVI, A.C.; MOÇO, M.C.C. Macrófitas aquáticas (Fanerógamas) do Município de General Carneiro – Paraná – Brasil. **Anais do IX CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BOTÂNICA**. Santo Domingo, República Dominicana, 2006.

BOVE, C.P.; BRAGANÇA-GIL, A.S.; MOREIRA, C.B. & ANJOS, R.F.B. Hidrófitas fanerogâmicas de ecossistemas aquáticos temporários da planície costeira do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v.17, n.1, p. 119-135, 2003. .

BREWBAKER, J. L. Pollen Citology and Self Incompatibility Systems in Plants. **Journal of Heredity** 48: 271-277, 1957

BREWBAKER, J. L. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the Angiosperms. **American Journal of Botany** 54(9):1069-1083, 1967.

BUZGO, M. Flower structure and development of Araceae compared with alismatids and Acoraceae. **Botanical Journal of the Linnean Society** 136: 393-425, 2001.

CERVI, A.C.; BONA, C.; MOÇO, M.C.C.; MARTELETO, F.M.; LUSA, M.G. Levantamento preliminar das macrófitas aquáticas (Fanerógamas) dos recursos hídricos do Município de General Carneiro – Paraná. **Resumos do 56º CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA**, Curitiba, Paraná, Brasil, 2005.

CERVI, A.C.; HATSCHBACH, G. & GUIMARÃES, O. A. Nota prévia sobre plantas aquáticas (fanerogâmicas) do Estado do Paraná (Brasil). **Boletim do Museu Botânico Municipal**, Prefeitura Municipal de Curitiba, Paraná, Brasil, v.58, p.1-17, 1983.

CHAMBERLAIN, C. J. **Methods in plant histology**. 5^a ed. Chicago, The University of Chicago Press, 416p, 1932.

CLÉMENT, C. & AUDRAN, J. C. Anther wall layers control pollen sugar nutrition in *Lilium*. **Protoplasma**, 187:172-181, 1995.

CLÉMENT, C.; BURRUS, M. & AUDRAN, J. C. Floral organ growth and carbohydrate content during pollen development in *Lilium*. **American Journal of Botany**, 83(4):459-469, 1996.

CLÉMENT, C.; CHAVANT, L.; BURRUS, M.; AUDRAN, J. C. Anther starch variations in *Lilium* during pollen development. **Sex Plant Reproduction**, 7:347-356, 1994.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981

DAHLGREN, R; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. **The families of monocotyledons**. Berlin: Springer, 1985.

DAVIS, G.L. **Systematic Embriology of the Angiosperms**. John Wiley and Sons Inc., New York, 1966

DUCKER, S.C. & KNOX, R.B. Submarine pollination in seagrasses. **Nature**, vol 263. October, 1976.

ENDRESS, P K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge: Cambridge University Press, 1994.

ERDTMAN, G. **Pollen Morphology and Plant Taxonomy**. New York. Alquimist & Witsell, 1952.

FURNESS, C.A & RUDALL, P.J. Inaperturate Pollen in Monocotyledons. **International Journal of Plant Sciences**, 160: 395 – 414, 1999.

FURNESS, C.A & RUDALL, P.J. Microsporogenesis in Monocotyledons. **Annals of Botany**, 84, 475-499, 1999.

FURNESS, C.A & RUDALL, P.J. Apertures with lids: distribution and significance of operculate pollen in Monocotyledons. **International Journal of Plant Sciences**, 164(6):835-854, 2003.

FURNESS, C.A. & RUDALL, P.J. Tapetum in Basal Angiosperms: Early Diversity. **International Journal o Plant Sciences**, 162(2): 375-392, 2001.

FURNESS, C.A. & RUDALL, P.J. Pollen and anther characters in monocot systematics. **Grana**, 40:17-25, 2001.

FURNESS, C.A. RUDALL, P.J. & SAMPSON, F.B. Evolution of Microsporogenesis in Angiosperms. **International Journal of Plant Sciences**, 163(2):235-260, 2002.

GERRITS; P. O.; SMID, L. A new, less toxic polymerization system form the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy**, v. 132, n.1, p.81-85, 1983.

GUO, Y. & COOK, C.D.K. Pollination efficiency of *Potamogeton pectinatus*. **Aquatic Botany**, 34. 1989.

HARDY, C.R., STEVENSON, D.W. & KISS, H.G. 2000. Development of gametophytes, flower, and floral vasculature in *Dichorisandra thyrsiflora* (Commelinaceae). **American Journal of Botany**, 87(9):1228-1239, 2000.

HARDY, C.R. & STEVENSON, D.W. Development of gametophytes, flower, and floral vasculature in *Cochliostema odoratissimum* (Commelinaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, 134:131-157, 2000.

HOEHNE, F.C. **Plantas aquáticas**. São Paulo: Secretaria de Agricultura de São Paulo, 1955.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: Mc Graw Hill Book, 1940.

JOHRI, B. M.; AMBEGAOKAR, K. B.; SRIVASTAVA, P. S. **Comparative embryology of angiosperm**. Springer-Verlag, Berlin. 1992.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant Systematics – a phylogenetic approach**. Massachusetts: Sinauer Associates, 2000.

LES *et al.* Phylogenetic studies in Alismatidae, II: evolution of marine Angiosperms (sea grasses) and hydrophily. **Systematic Botany**, 22(3), 1997.

LES, D. H. Breeding systems, population structure, and evolution in hydrophilous angiosperms. **Annals of Missouri Botanical Garden**, 75: 819-835, 1988.

LUSA, M.G & BONA, C. Caracterização morfo-anatômica de *Potamogeton polygonus* Cham. *et* Schltdl., em ambientes lêntico e lótico. **Resumos do 56º CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA**, Curitiba, Paraná, Brasil, 2005.

MCDOWELL, E. M. & TRUMP, B. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, 100:405-414, 1976.

NADOT, S. FORCHIONI, A. PENET, L. SANNIER, J. AND RESSAYRE, A. **Links between early pollen development and aperture pattern in monocots**. **Protoplasma**, 228: 55–64, 2006.

O'BRIAN, T.P.; FEDER, N.; McCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, 59: 368-373, 1965.

PENET L., NADOT S., RESSAYRE A., FORCHIONI A., DREYER L. and GOUYON, P. H. Multiple Developmental Pathways Leading to a Single Morph: Monosulcate Pollen (Examples From the Asparagales). **Annals of Botany**, 95: 331–343, 2005.

PERVEEN, A. A palynological survey of Aquatic Flora of Karachi – Pakistan. **Turkish Journal of Botany**, 23309-317, 1999.

PETTITT, J.M *et al.* Unique adaptation for submarine pollination in seagrasses: pollen development in *Thalassia hemprichii*, *Halophila stipulacea* and *Thalassodendron ciliatum*. **Annals of Botany**, 48, 609-622, 1981.

PETTITT, J.M. & JERMY, A.C. Pollen in hydrophilous angiosperms. *Micron*, 5: 377-405, 1975.

PETTITT, J.M. Reproduction in seagrasses. *Macmillan Journals*, 1980.

PHILBRICK, C. T. Evolution of underwater outcrossing from aerial pollination systems: a hypothesis. *Annals of Missouri Botanical Garden*, 75:836-841, 1988.

POMPÊO, M.L.M. & MOSCHINI-CARLOS, V. **Macrófitas aquáticas e perifiton – aspectos ecológicos e metodológicos**. São Carlos: Rima, 2003.

POSLUSZNY, U. & CHARLTON, W.A. Evolution of the Helobial Flower (apenas resumo). *American Journal of Botany*. 78(6): 161, 1991.

POSLUSZNY, U. & CHARLTON, W.A. Inflorescence in the Helobiae (Alismatidae) – convergences and divergences (apenas resumo). *American Journal of Botany*. 73(5): 617, 1986.

POSLUSZNY, U. & SATTTLER, R. A comparison of floral development in *Ruppia* and *Potamogeton* (apenas resumo). *American Journal of Botany*. 61(5): 61, 1974.

POSLUSZNY, U. & SATTTLER, R. Floral development of *Potamogeton densus*. *Canadian Journal of Botany*. 51: 647-656 (apenas resumo), 1973.

POSLUSZNY, U. & SATTTLER, R. Floral development of *Potamogeton richardsonii*. *American Journal of Botany*. 61(2): 209-216, 1974.

POSLUSZNY, U. Unicarpellate floral development in *Potamogeton zosteriformis*. *Canadian Journal of Botany*. 59:495-504, 1981.

RESSAYRE, A. Equatorial aperture pattern in monocots: same definition rules as in eudicots? The example of two species of Pontederiaceae. *International Journal of Plant Science*, 162(6):1219–1224, 2001.

RODRIGUES, R. S. & IRGANG, B. E. Potamogetonaceae Dumort., no Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, ser. Bot.* n. 56, p. 3-49, 2001.

RUTISHAUSER, A. **Introducción a la Biología de la Reproducción de las Angiospermas**. Editora Hemisferio Sur. 1982.

SALGADO-LABORIAU, M.L. **Contribuição à palinologia dos cerrados**. São Paulo. Academia Brasileira de Ciência, 1973.

SANNIER, J., NADOT, S. FORCHIONI, A. HARLEY FLS. M. and ALBERT B. Variations in the microsporogenesis of monosulcate palm pollen. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 151, 93–102, 2006.

SANTOS, R. P. **Androsporogênese, androgametogênese e desenvolvimento do androsporângio de *Ilex paraguariensis* St. Hill. (Aquifoliaceae).** Dissertação de Bacharelado no Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 104p. 1993.

SATTler, R. Perianth development of *Potamogeton richardsonii*. **American Journal of Botany**, 52(1): 35-41, 1965.

SINGH, V. Morphological and anatomical studies in Helobiae. II Vascular anatomy of the flower of Potamogetonaceae. **Botanical Gazette**, 126(2):137-144, 1965.

SORSA, P. Pollen Morphology of Potamogeton and Groenlandia (Potamogetonaceae) and its taxonomic significance. **Annales Botanici Fennici**, 25:179-199, 1988.

SOUTHWORTH, D. Cytochemical reactivity of pollen walls. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, 21(1): 73-80, 1973.

SOUZA, V.C. & LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005.

TAMURA, M.N. et al. Molecular phylogeny of monocotyledons inferred from combined analysis of plastid matK and rbcL gene sequences. **Journal of Plant Research**, 117:109–120, 2004.

THOMAZ, S.M. & BINI, L.M. **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas.** Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá, 2003.

VIJAYARAGHAVAN, M.R. & RATNAPARKHI, S. Dual Origin and Dimorphism of the Anther tapetum in *Alectra thomsoni* Hook. **Annals of Botany**, 37, 355-9, 1973.

WIEGAND, K.M. The development of the microsporangium and microspores in *Convallaria* and *Potamogeton*. **Botanical Gazette**, 28: 328-368, 1899.